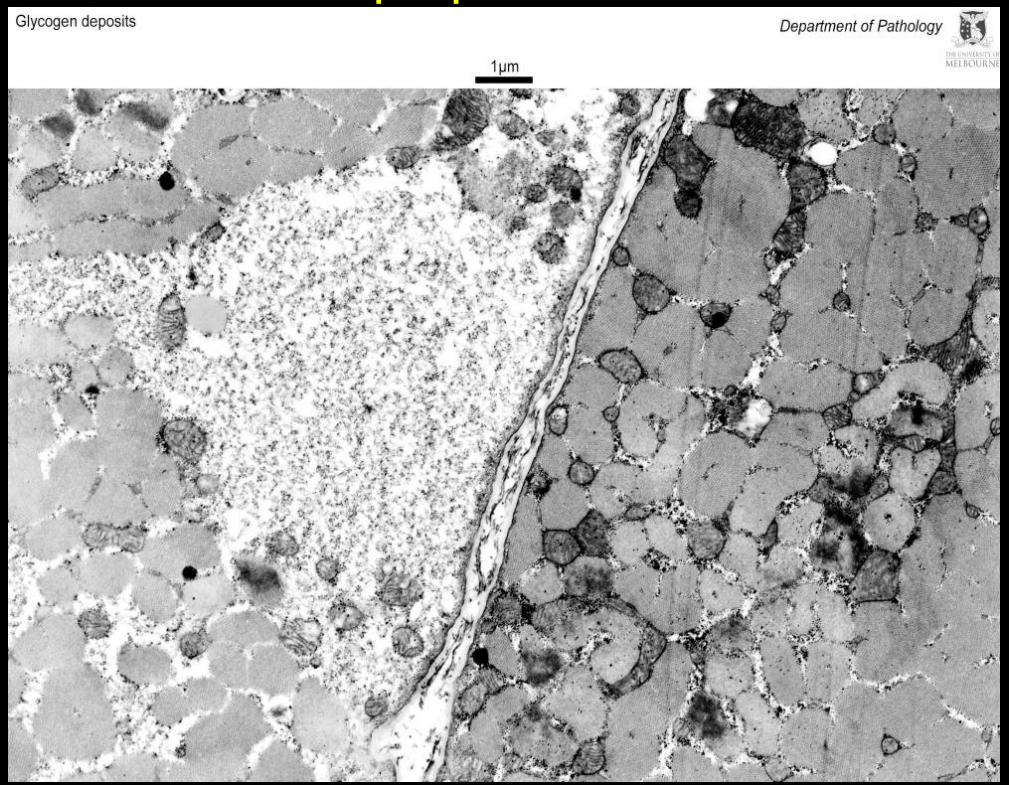
Aula 28.10.09:
Síntese e degradação do glicogênio

Glicogênio – síntese e degradação

- As enzimas que catalisam a síntese e a degradação do glicogênio, além de proteínas reguladoras destes processos, estão intimamente associadas ao polímero em grânulos citossólicos
- São vias/processos bioquímicos relativamente simples
- A regulação destes processos é bastante complexa:
  - regulação alostérica
  - por hormônios: fosforilação reversível de enzimas
    - epinefrina e glucagon (degradação)
    - insulina (síntese)
- A degradação do glicogênio é integrada com a síntese

Glicogênio – introdução

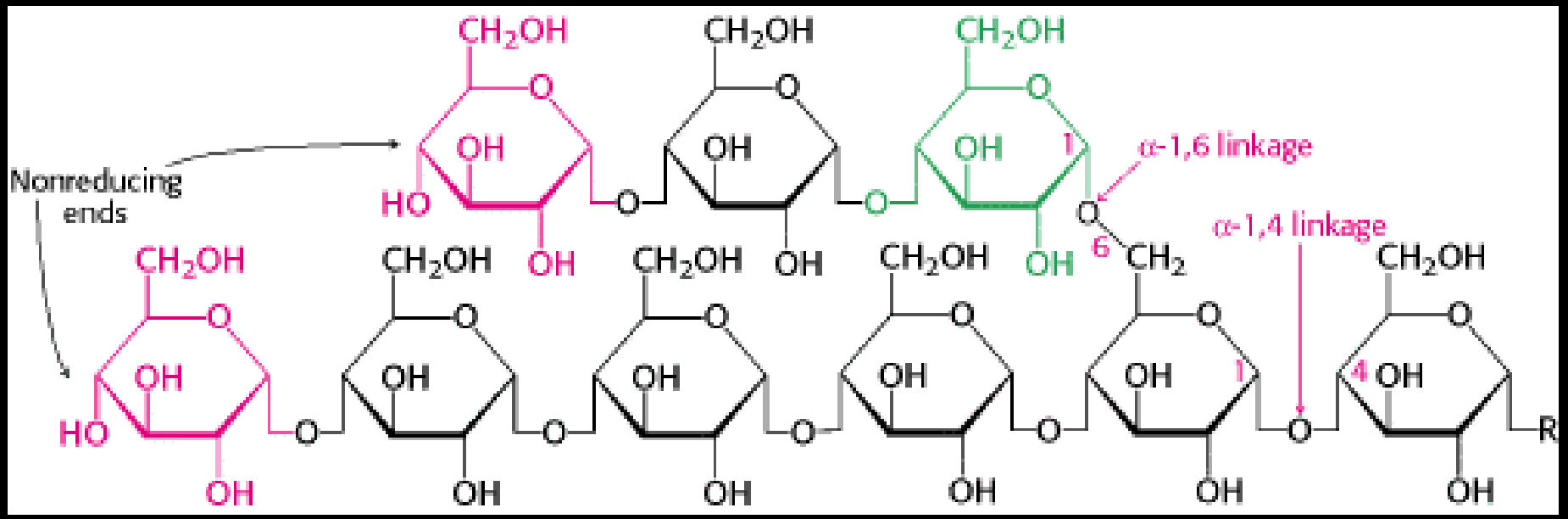
- É armazenado no fígado, músculo esquelético e rim
- Está presente no citossol na forma de grânulos com diâmetros que vão de cerca de 10 a 40 nm
- No fígado, a síntese e a degradação do glicogênio são reguladas para enfrentar as necessidades do organismo como um todo.
- No músculo estes processos são regulados para enfrentar as necessidades do próprio músculo.



- Micrografia eletrônica de uma célula hepática – As partículas densas no citoplasma são grânulos de glicogênio

Glicogênio – estrutura

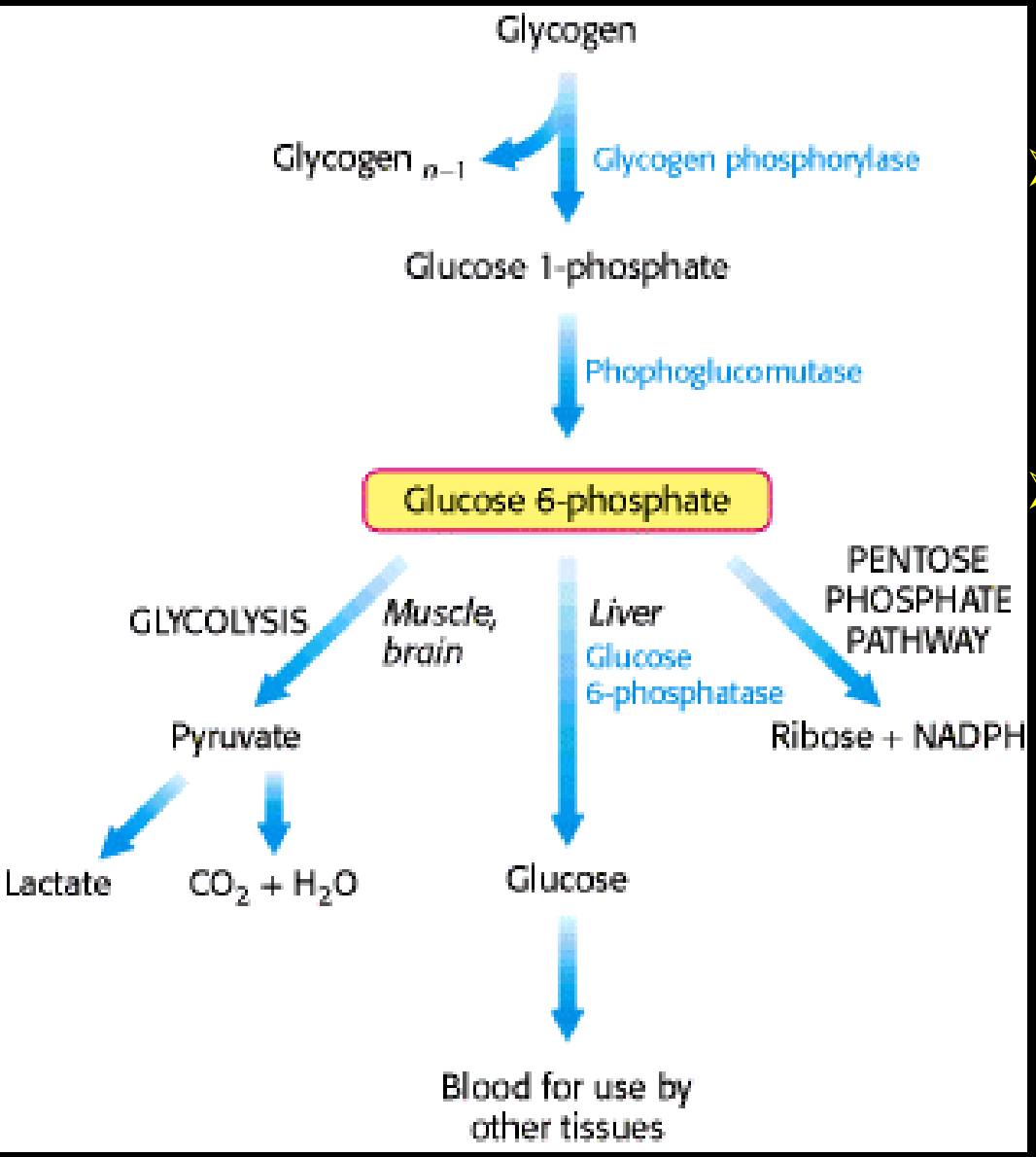
- Estrutura do glicogênio: nesta estrutura 2 ramificações externas de uma molécula de glicogênio, as glicoses da extremidade não redutoras são mostradas em vermelho e, a que começa uma ramificação em verde. O restante da molécula é representado por R.



Glicogênio – introdução

- É uma forma prontamente mobilizável de armazenamento de glicose
- Não é tão reduzido quanto os ácidos graxos
- Reserva de energia/glicose hidrofílica – precisa envelope de solvatação
- É uma importante reserva alimentar por várias razões:
  - A degradação controlada de glicogênio e a liberação de glicose aumentam a quantidade de glicose disponível entre as refeições
  - O glicogênio serve como um tampão para manter os níveis sanguíneos de glicose
  - A glicose do glicogênio, quando liberada, ao contrário dos ác. graxos pode fornecer energia na ausência de oxigênio e pode assim ser um suprimento para atividade anaeróbia

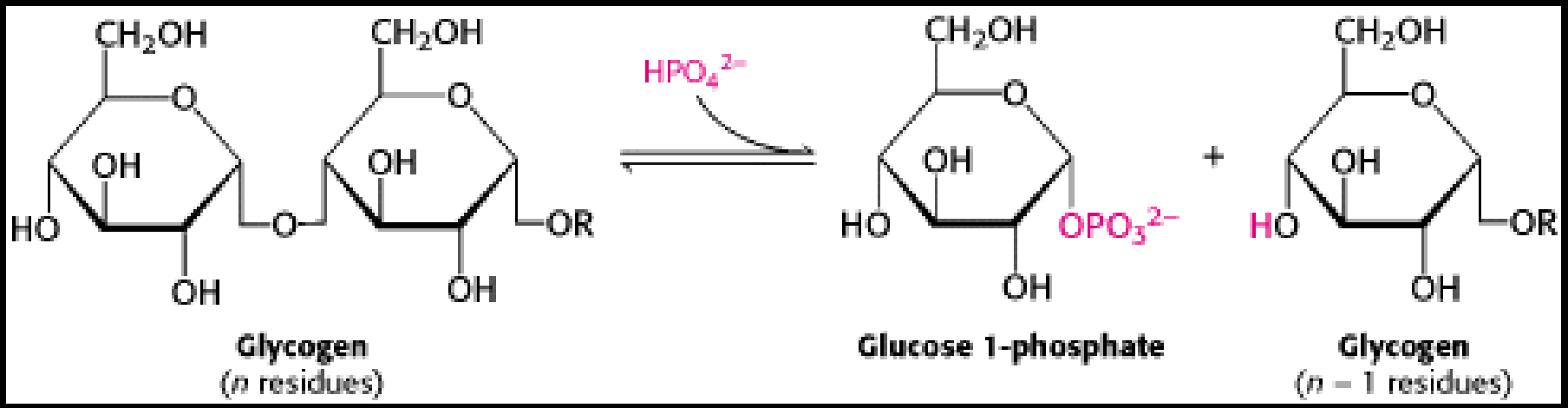
Glicogênio – degradação



- Degradação do glicogênio:
  - Liberação de glicose-1-fosfato do glicogênio
  - Remodelação do substrato
  - Transformação da glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato.
- A glicose-6-fosfato derivada de glicogênio pode
  - Ser utilizada como fonte de energia para o metabolismo anaeróbio ou anaeróbio
  - Ser transformada em glicose livre no fígado e em seguida liberada para o sangue
  - Ser processada pela via pentose-fosfato gerando NADPH ou ribose numa gama de tecidos

Glicogênio – degradação

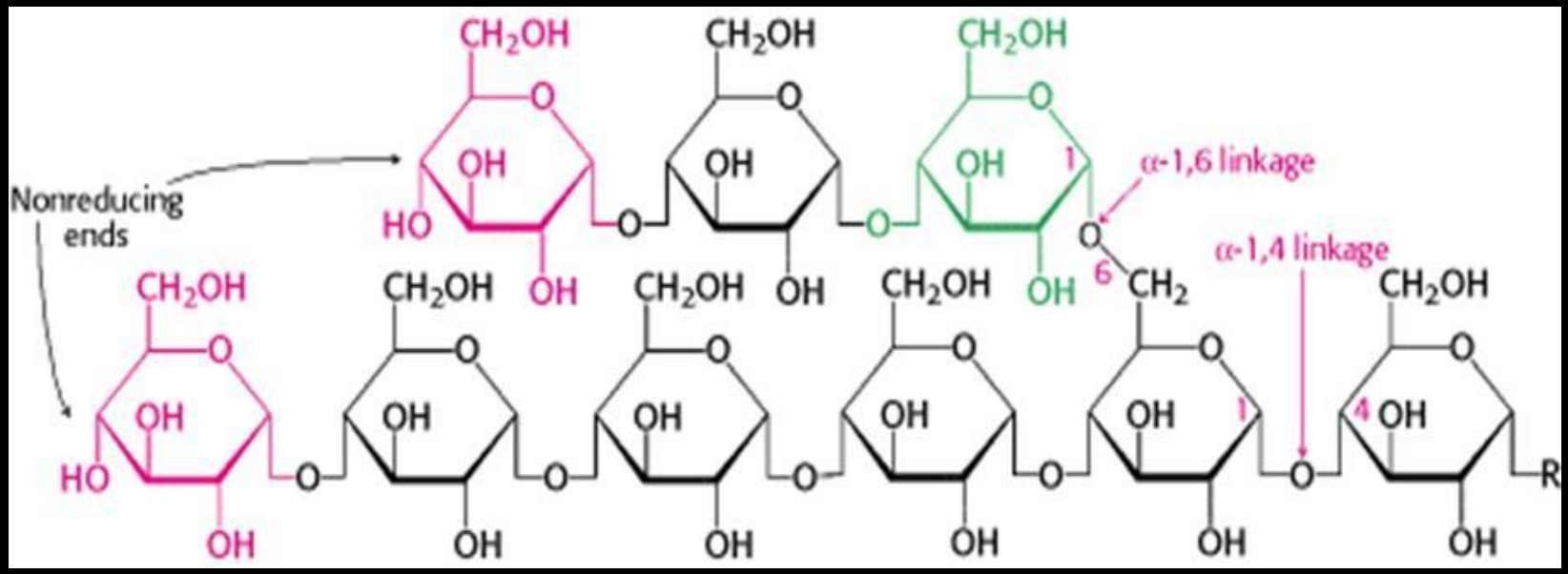
- Glicogênio fosforilase catalisa a clivagem fosforolítica do glicogênio (reação de fosforólise!):



- A clivagem fosforolítica do glicogênio é energeticamente vantajosa !!!

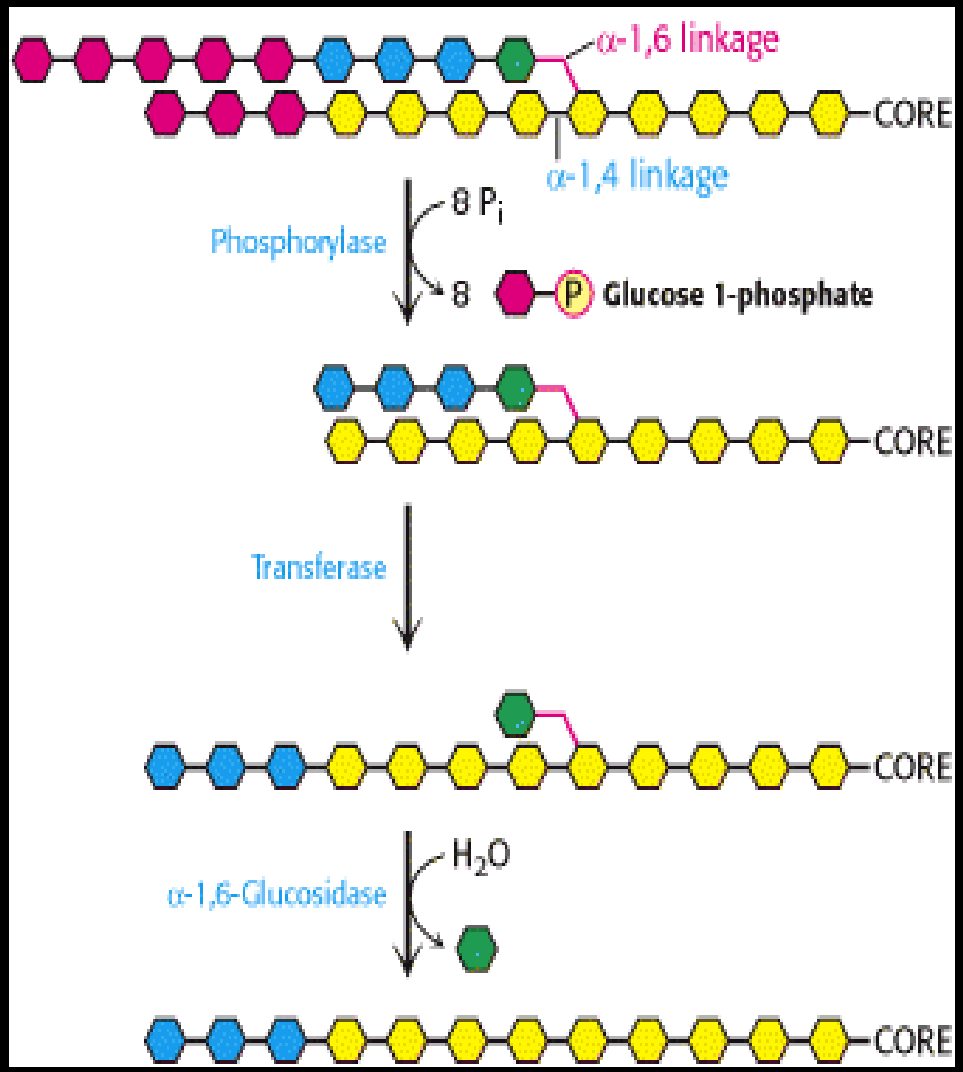
Glicogênio – degradação

- A glicogênio fosforilase atua até encontrar um obstáculo: as ligações glicosídicas α-1,6



- Solução: uma transferase e uma α-1,6 glicosidase remodelam o glicogênio

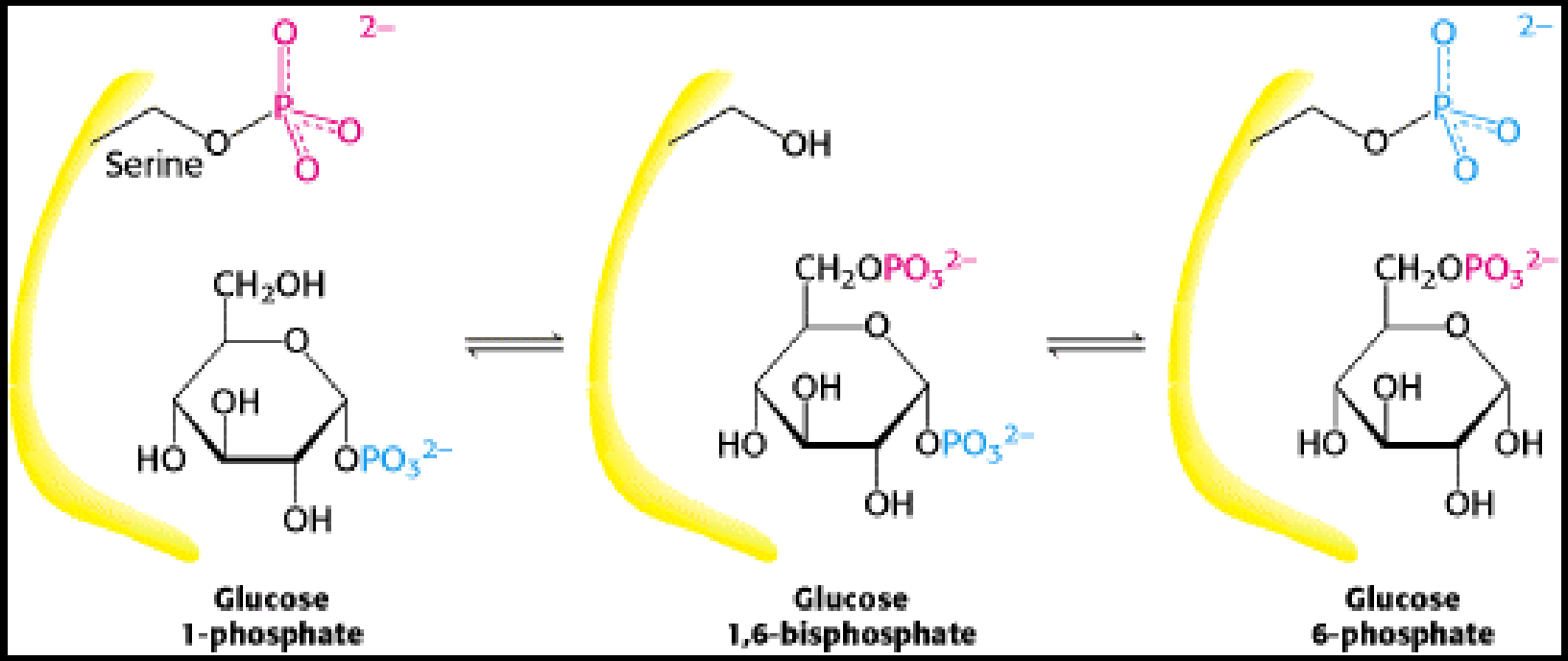
Glicogênio – degradação



- Remodelamento do Glicogênio
  - As ligações glicosídicas α-1,4 são clivadas pela fosforilase, deixando 4 glicoses ao longo de cada ramificação.
  - A transferase remaneja um bloco de 3 glicoses de um ramo externo para outro. A ligação glicosídica α-1,4 entre as glicoses em azul e verde é quebrada, e uma nova ligação α-1,4 é formada entre as glicoses azul e amarela.
  - A glicose verde é a seguir removida pela α-1,6 glicosidase, deixando uma cadeia linear com todas as ligações α-1,4
  - A molécula livre de glicose é fosforilada pela hexocinase da via glicolítica.

Glicogênio – degradação

- A glicose-1-fosfato formada na clivagem fosforolítica do glicogênio tem que se transformar em glicose 6-fosfato para entrar no fluxo metabólico principal. Este deslocamento de fosforila é catalisado pela fosfoglicomutase, enzima utilizada também no metabolismo da galactose.



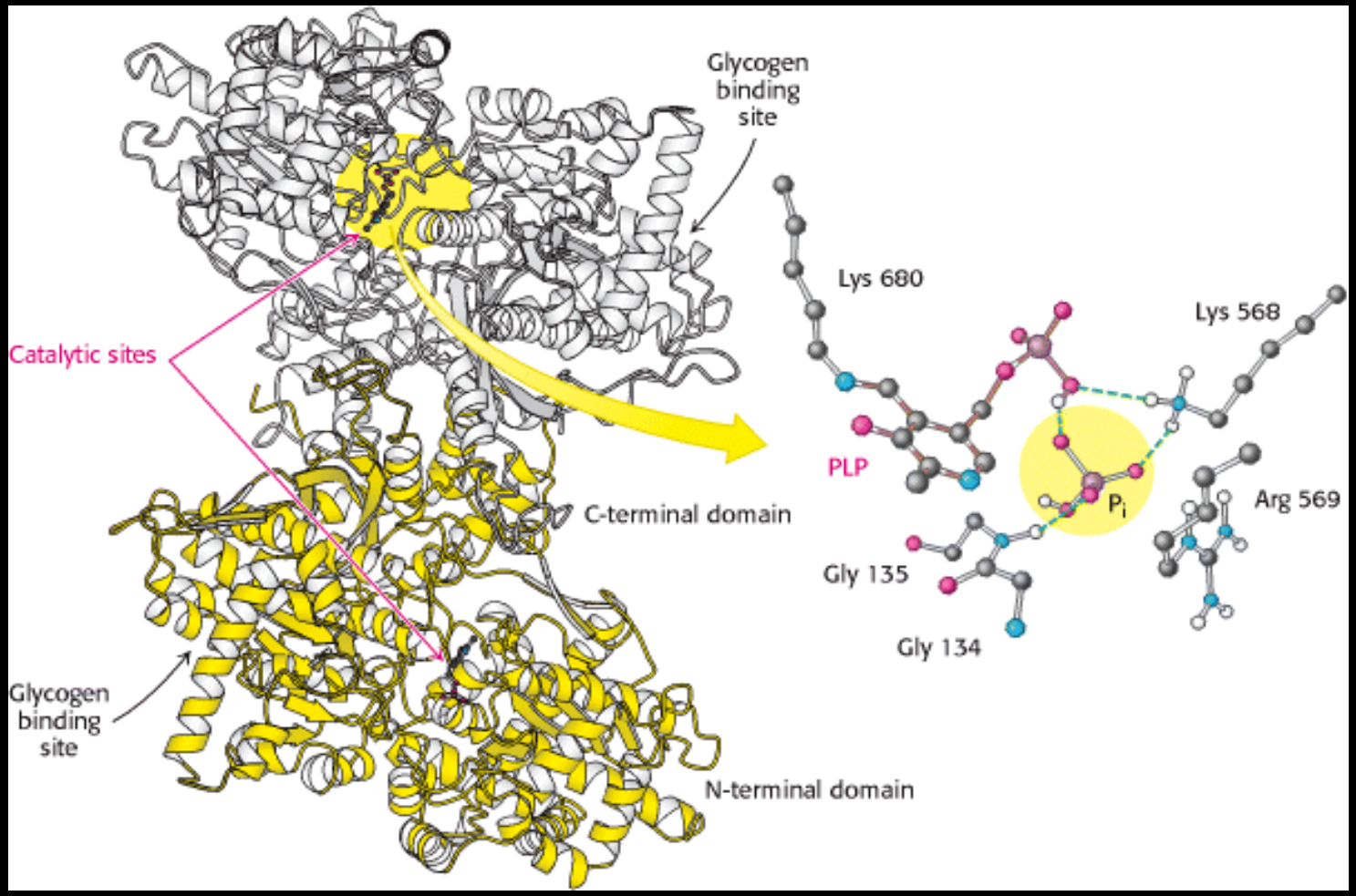
- Reação de catalisada pela fosfoglicomutase – uma fosforila é transferida da enzima para o substrato. E uma fosforila diferente é transferida de volta para restaurar a enzima ao seu estado natural

Glicogenólise – fígado

- Função importante do fígado: manter um nível relativamente constante de glicose no sangue.
- Libera glicose para o sangue durante a atividade muscular e no intervalo entre as refeições para ser captado pelo cérebro e pelo músculo esquelético
- A glicose fosforilada produzida pela degradação do glicogênio não pode difundir-se para fora das células. O fígado contém uma enzima hidrolítica - a glicose-6-fosfatase - que cliva a fosforila, formando glicose livre e ortofosfato. É a mesma enzima que libera glicose livre no final da gliconeogênese.
- A glicose-6-fosfatase está ausente na maioria dos outros tecidos. Em conseqüência, a glicose-6-fosfato é retida para a geração de ATP.
- A glicose é não é um alimento importante para o fígado.

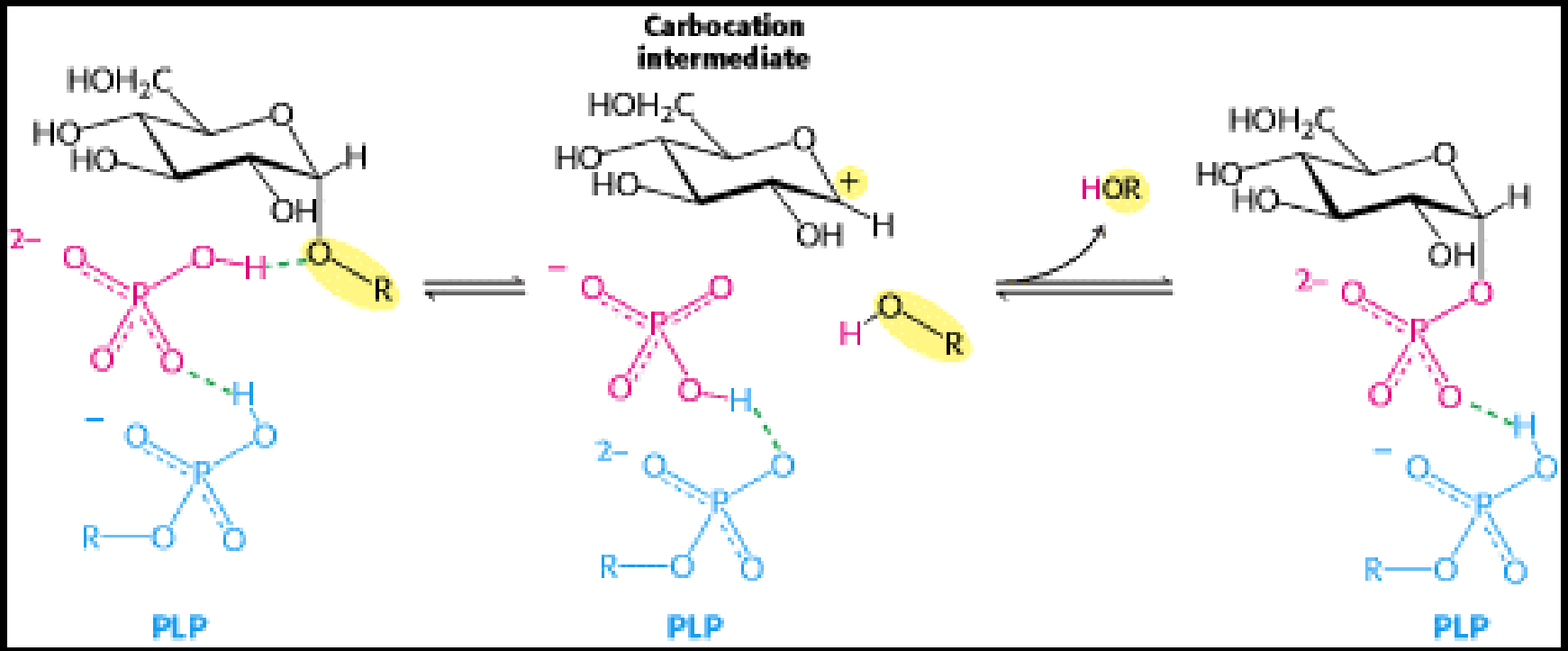
Glicogênio fosforilase

- Esta enzima forma um homodímero: uma subunidade é mostrada em branco a outra em amarelo. Cada centro catalítico inclui um piridoxal fosfato (PLP) ligado à lisina 680 da enzima. È mostrado o centro ligante para o substrato fosfato (Pi)



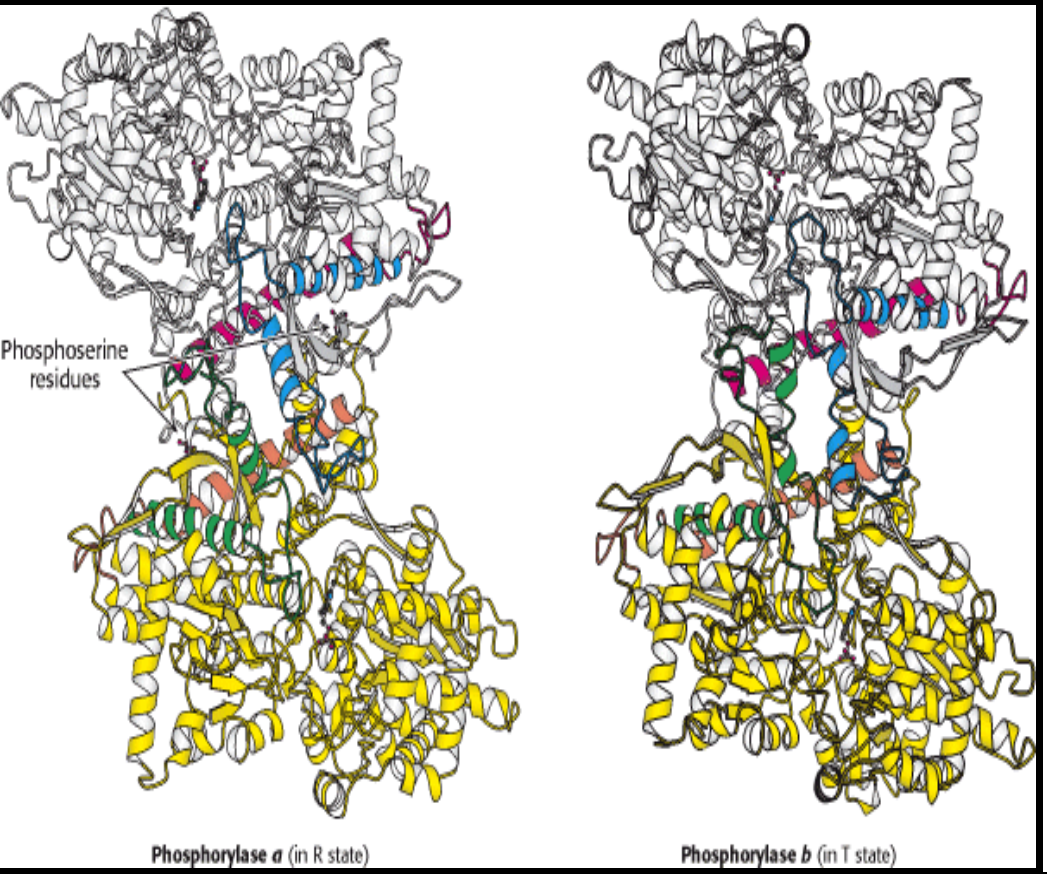
Glicogênio fosforilase

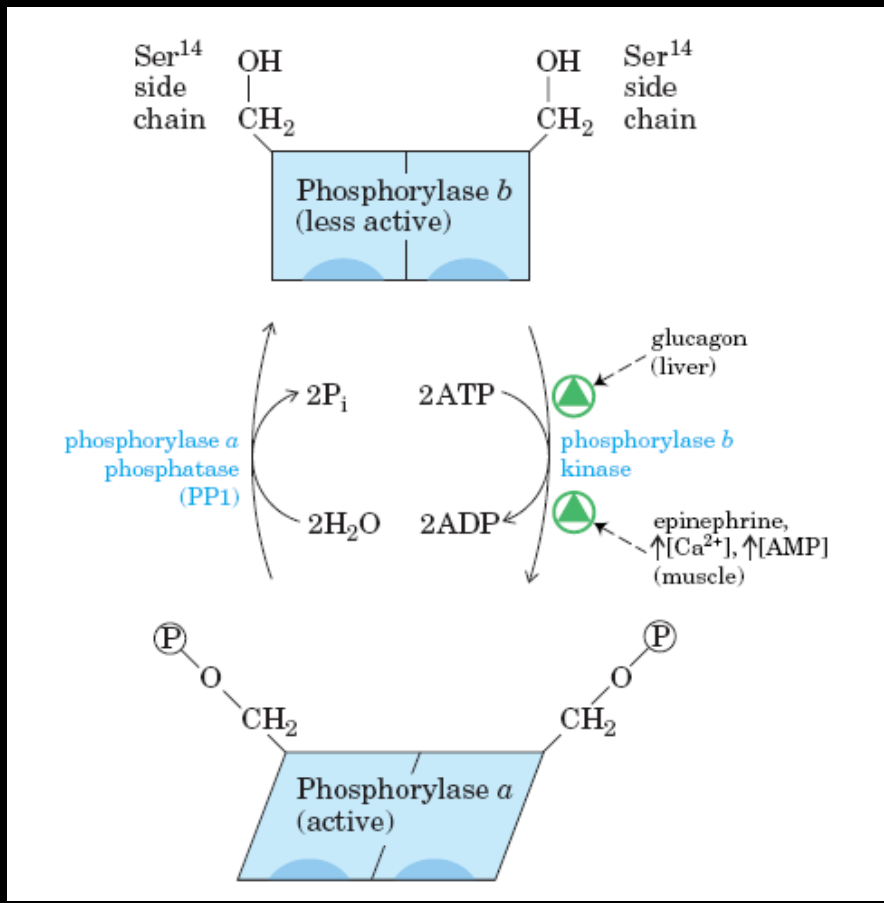
- Um grupamento HPO_4^{2-} ligado (vermelho) favorece a clivagem da ligação glicosídica por doar um próton ao glicogênio (n-1) que sai (em preto).
- Esta reação resulta na formação de um carbocátion e é favorecida pela tranferência de um próton do grupamento fosfato protonado do pirodoxal fosfato ligado (azul).
- A combinação do carbocátion (glicogênio) com o ortofosfato resulta na formação de glicose-1-fosfato.



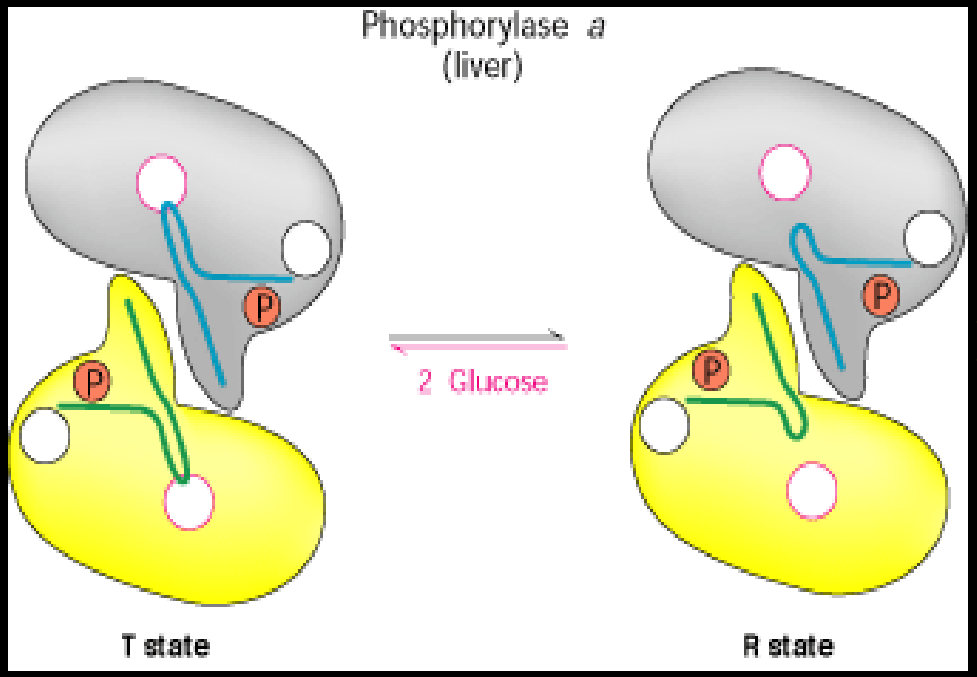
Glicogênio fosforilase muscular

- A fosforilase músculo esquelético é um dímero que existe em 2 formas inter-conversíveis: uma geralmente ativa (a) e uma geralmente inativa (b). Cada uma delas existe em equlíbrio entre um estado mais ativo - relaxado (R) - e um menos ativos, o estado tenso (T). Porém, o equilíbrio para a fosforilase (a) favorece o estado R e para (b) favorece o estado T.

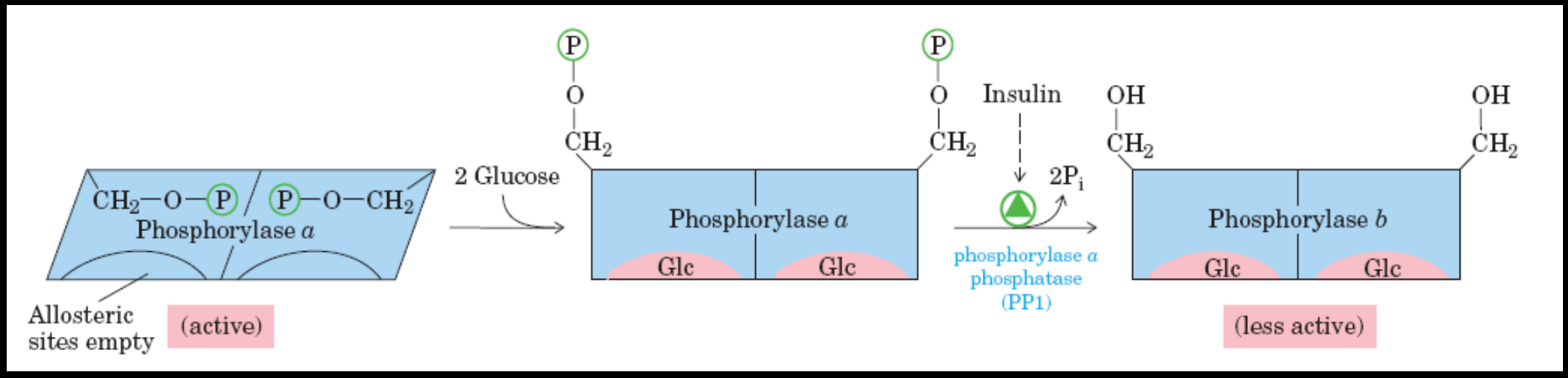




Glicogênio fosforilase hepática



- A glicogênio fosforilase hepática, diferentemente da enzima muscular, é insensível à presença de AMP porque o fígado não experimenta variações dramáticas na carga energética vistas nos músculos em contração.
- Regulação alostérica: a ligação de glicose à fosforilase (a) e desfosforilação pela fosfatase ativada via insulina desvia o equilíbrio para o estado T e inativa a enzima.



Glicogênio – síntese

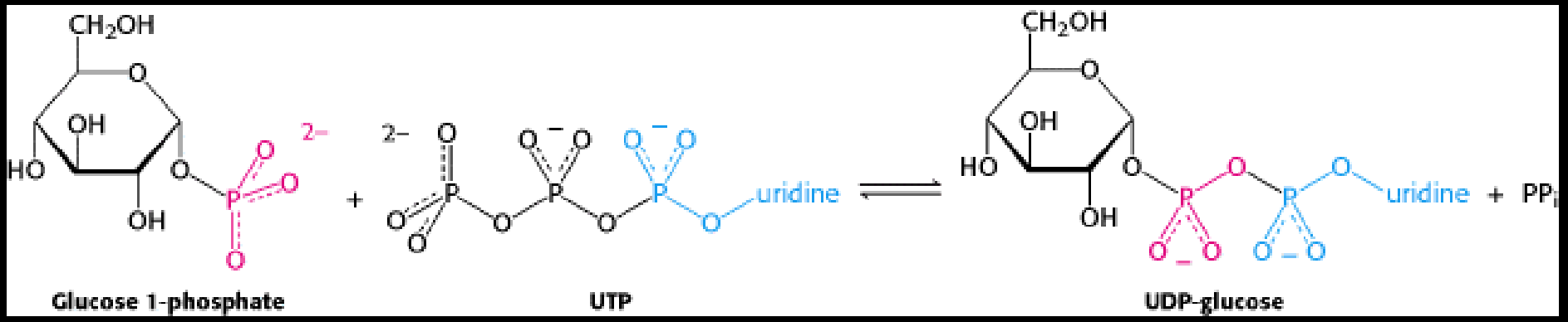
- O glicogênio é sintetizado e degradado por vias diferentes
- O metabolismo do glicogênio forneceu o primeiro exemplo que raramente as vias de biossíntese e de degradação operam no mesmo sentido e, sim em sentidos opostos. Vias separadas permitem flexibilidade maior, tanto em energética quanto em controle
- Em 1957, Leloir e colaboradores mostraram que o glicogênio é sintetizado por uma via metabólica que utiliza uridina difosfato glicose (UDP-glicose) e não glicose-1-fosfato como doador de glicose ativada

$$\text{Synthesis: Glycogen}_n + \text{UDP-glucose} \longrightarrow \text{glycogen}_{n+1} + \text{UDP}$$

$$\text{Degradation: Glycogen}_{n+1} + P_i \longrightarrow \text{glycogen}_n + \text{glucose 1-phosphate}$$

Glicogênio – síntese

- A UDP-glicose, doador de glicose na biossíntese de glicogênio, é uma forma de glicose ativada
- A síntese de UDP-glicose (pela UDP-glicose pirofosforilase) é um exemplo de tema que aparece várias vezes em bioquímica: muitas reações de biossíntese são impulsionadas pela hidrólise de pirofosfato



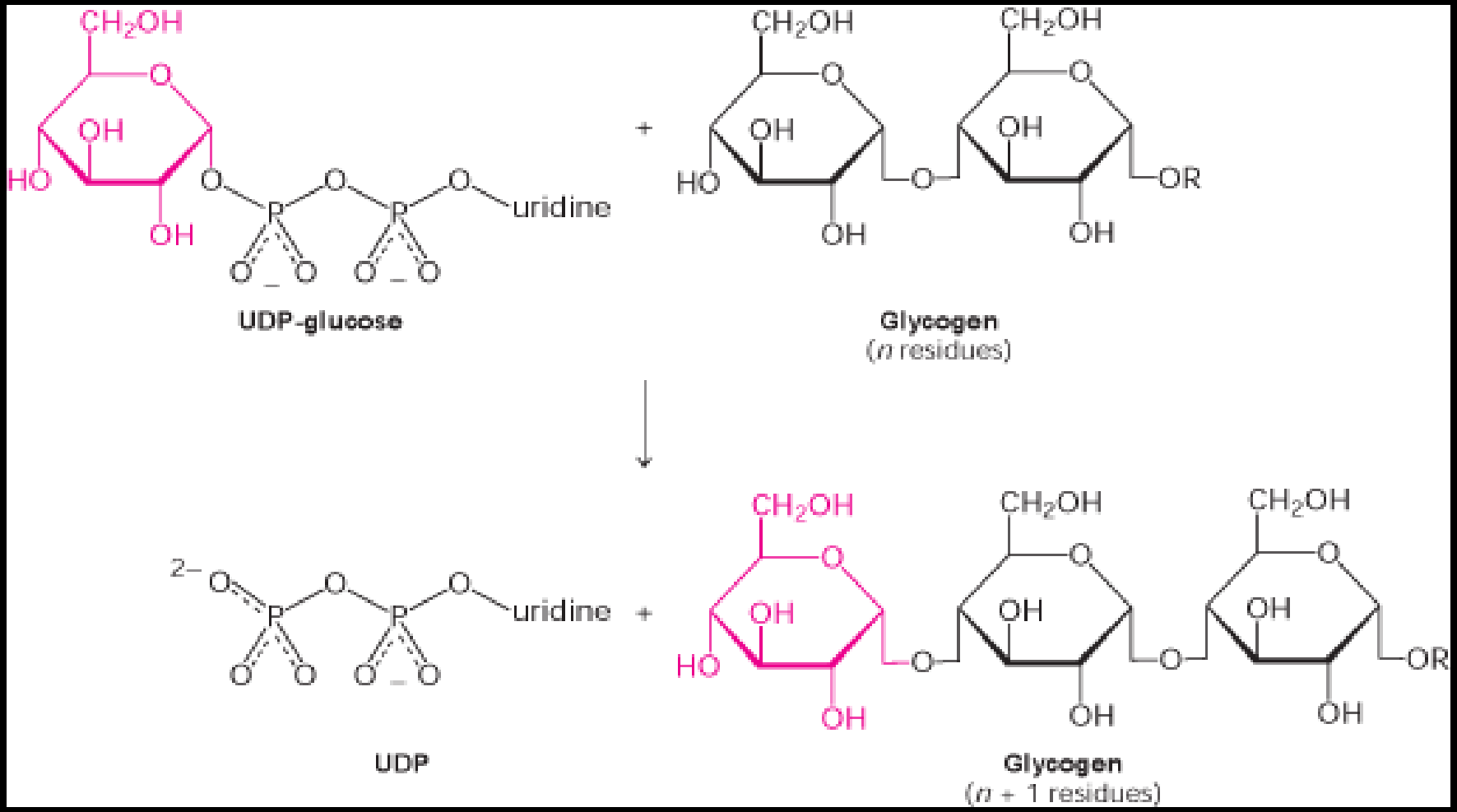
$$\text{Glucose 1-phosphate} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDP-glucose} + PP_i$$

$$PP_i + H_2O \longrightarrow 2\,P_i$$

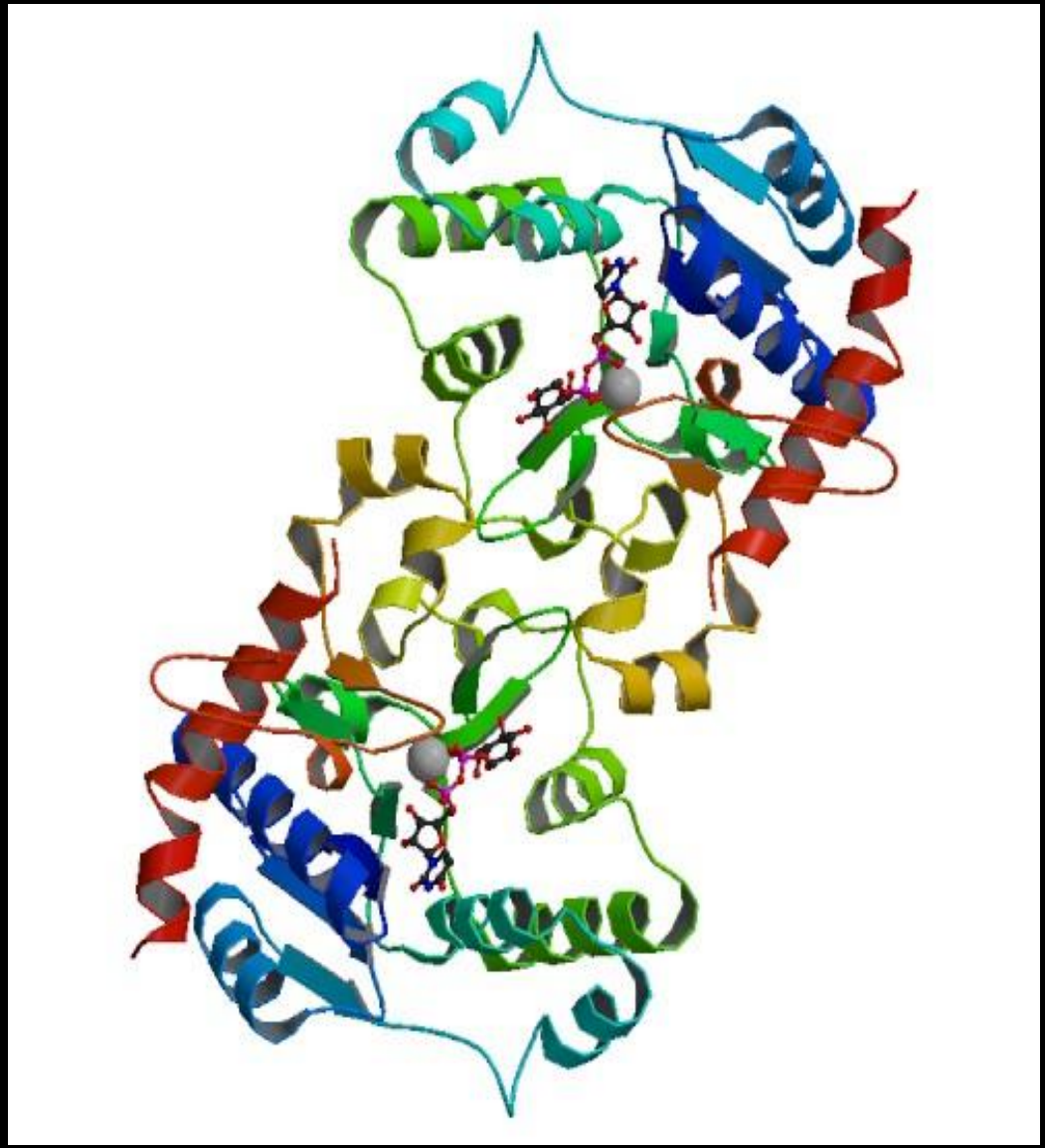
$$\text{Glucose 1-phosphate} + \text{UTP} + H_2O \longrightarrow \text{UDP-glucose} + 2\,P_i$$

Glicogênio – síntese

- Novas unidades de glicose ativada são adicionadas aos terminais não redutores do glicogênio. Reação é catalisada pela enzima glicogênio sintase, que promove a formação de ligações glicosídicas tipo α1-4

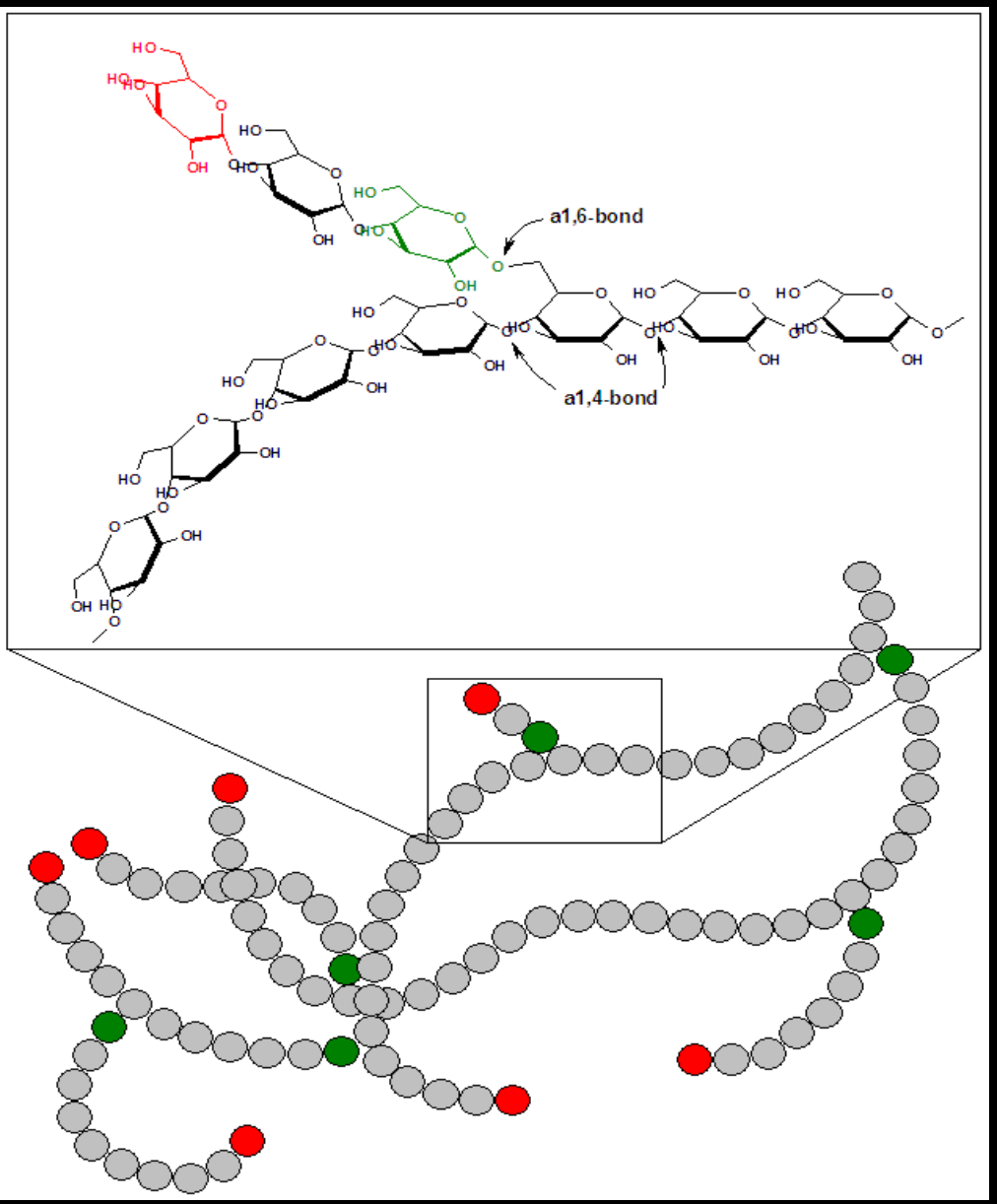


Glicogênio – síntese



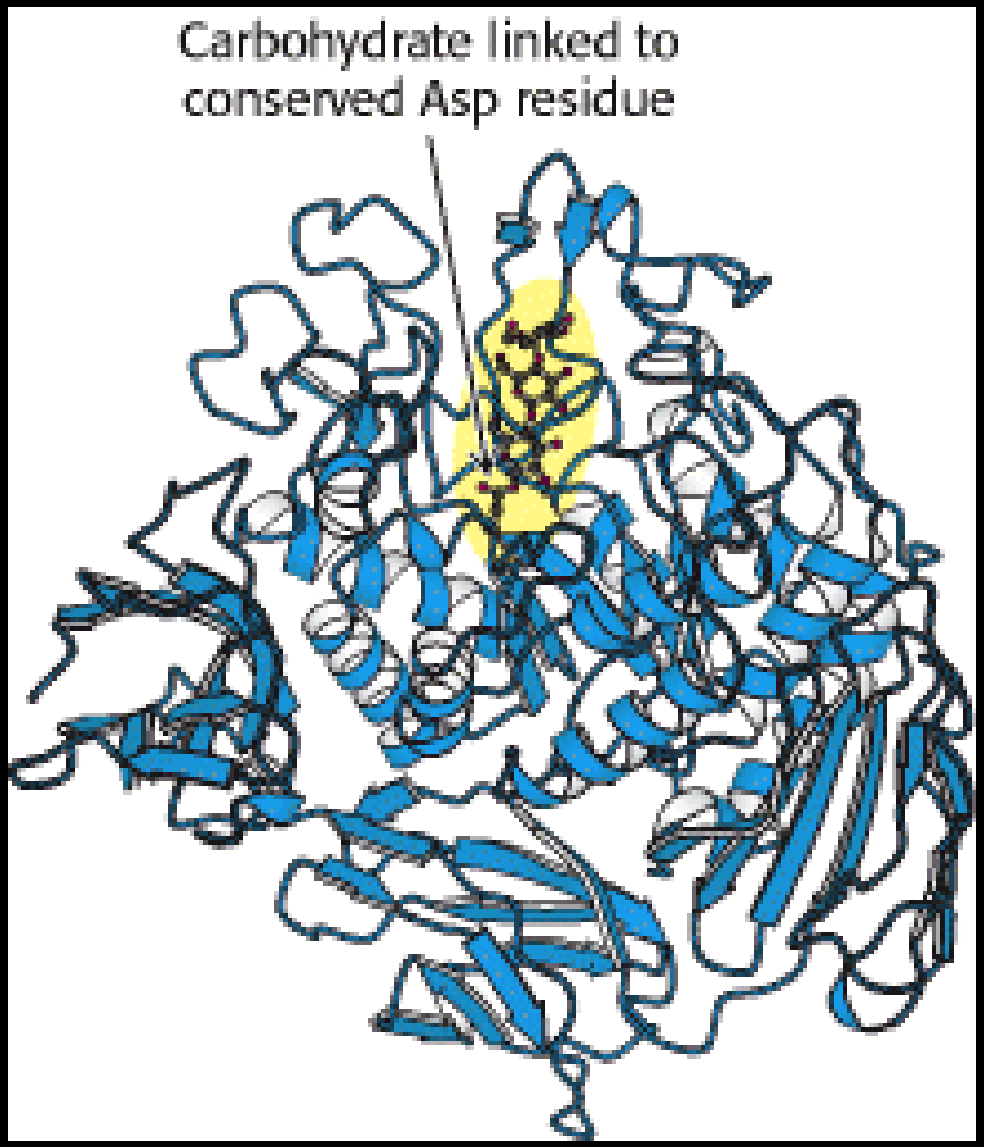
- Primer: a glicogênio sintase só pode adicionar unidades de glicose, se a cadeia poliosídica contiver mais de 4 oses, ou seja, pré-existente. Assim a síntese de glicogênio precisa de um primer.
  Essa função é executada pela glicogenina, uma proteína que catalisa auto-glicosilação de tirosina de uma subunidade por outra. A glicosilação continua até 5-13 unidades de glicose são adicionadas.

Glicogênio – síntese



- A cada 10-14 unidades de glicose, uma enzima ramificadora (glicosil α 4:6-transferase) forma as ligações α-1,6 pois a glicogênio sintase só catalisa a síntese de ligações α-1,4
- A enzima ramificadora transfere últimas 7 unidades de glicose da posição α-1,4 para a posição α-1,6
- As ramificações são importantes porque aumentam a solubilidade do glicogênio e criam um grande número de radicais terminais que são os locais de ação da glicogênio fosforilase e da glicogênio sintase

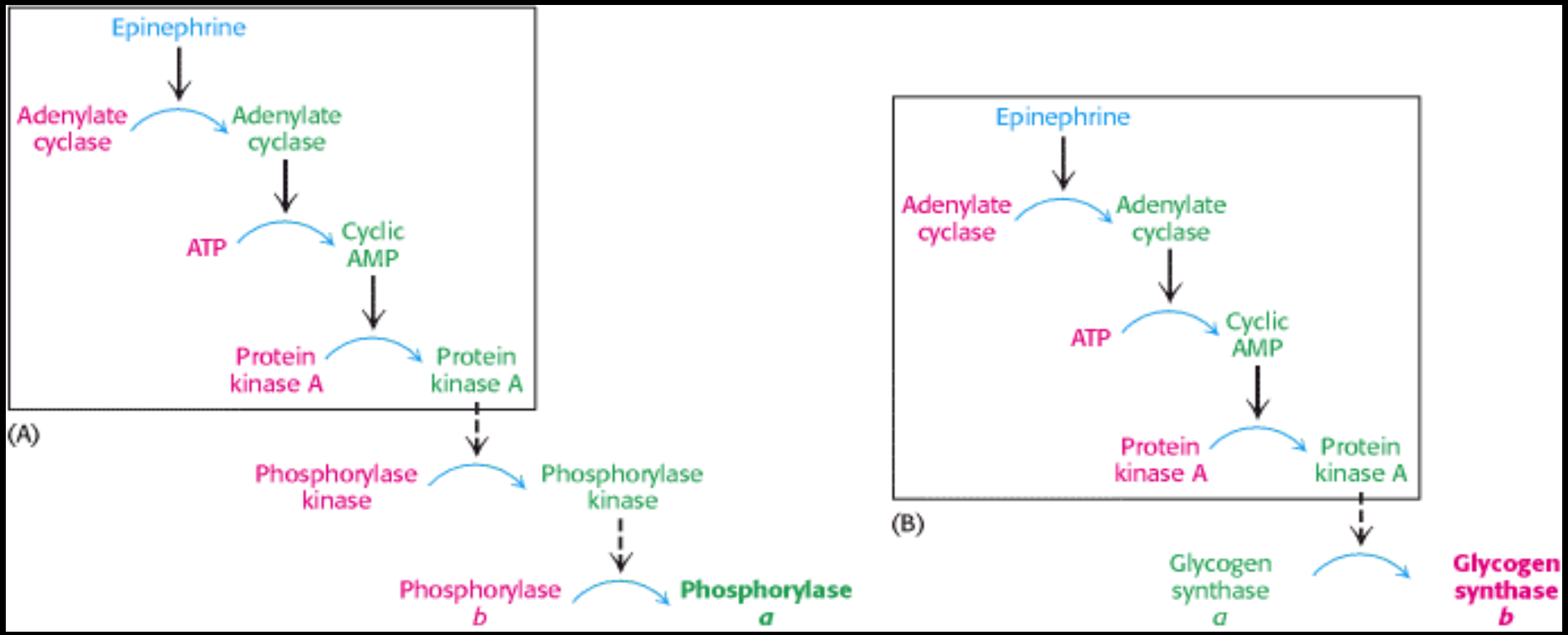
Glicogênio – síntese



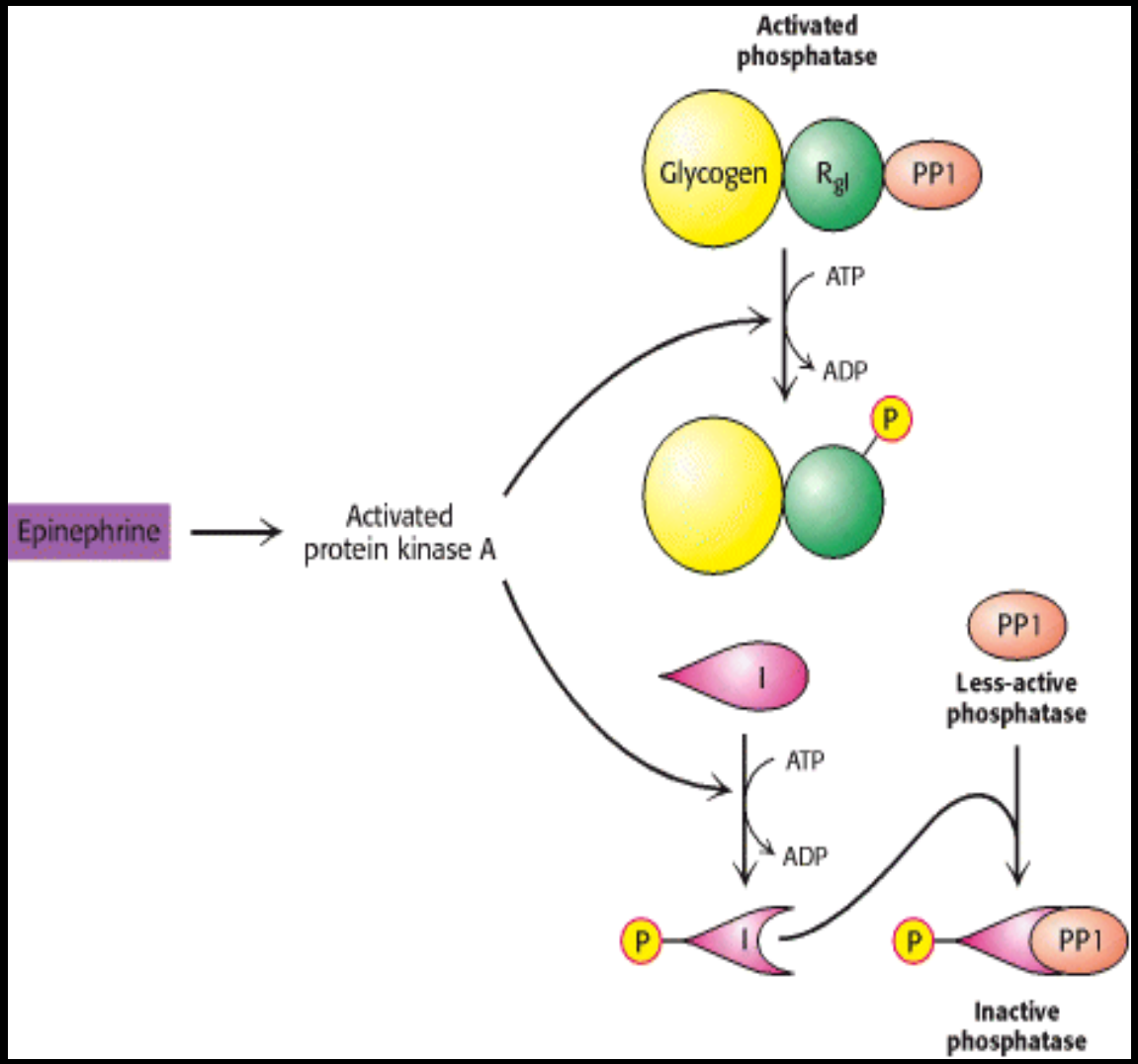
- A glicogênio sintase é uma enzima reguladora importante na síntese de glicogênio
- A glicogênio sintase é fosforilada em múltiplos locais pela proteína quinase A e por várias outras quinases
- A fosforilação transforma a glicogênio sintase a em uma forma b, geralmente inativa
- Estrutura da glicogênio sintase um aspartato conservado forma um intermediário covalente com a cadeia de moléculas de glicose

Glicogênio – regulação de síntese e degradação

- O metabolismo do glicogênio é regulado em parte pelas cascatas AMP cíclico disparadas por hormônios: (A) degradação do glicogênio, (B) síntese do glicogênio. As formas inativas estão em vermelho e as ativas em verde. A seqüência de reações que levam à ativação da proteína quinase A é a mesma na regulação da degradação e síntese do glicogênio. A fosforilase quinase também inativa a glicogênio sintase



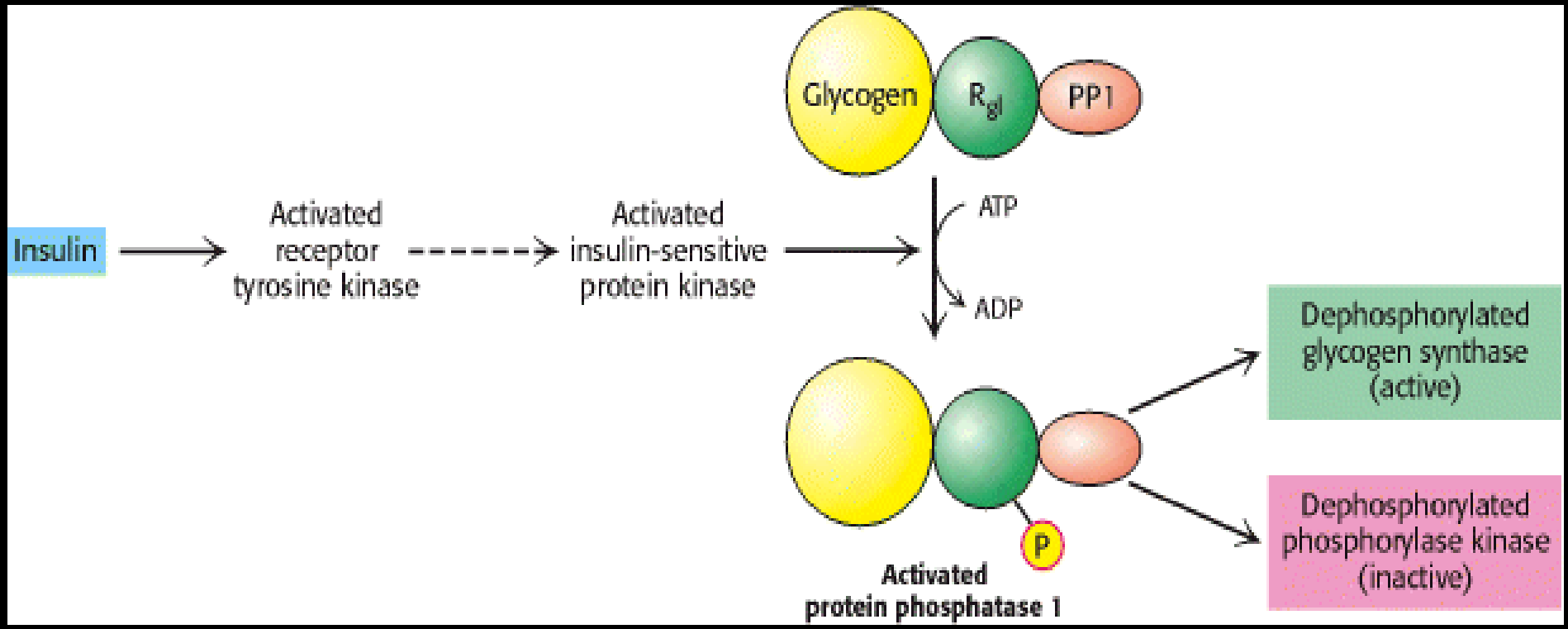
Glicogênio – regulação de síntese e degradação



- A regulação da proteína fosfatase 1 (PP1) : A fosforilação da R_{GI} pela proteína quinase A dissocia a subunidade catalítica da partícula de glicogênio e portanto dos substratos da PP1. A inibição se completa quando a subunidade (I) do Inibidor é fosforilada e liga-se a PP1 para inativá-la.

Glicogênio – regulação de síntese e degradação

- Quando a glicemia é alta, a insulina estimula a síntese de glicogênio ao disparar uma via que ativa a proteína fosfatase 1
- A insulina dispara uma cascata de reações que leva à ativação da proteína fosfatase 1, o que resulta no estímulo da síntese do glicogênio e na inibição de sua de sua degradação.



Glicogênio – regulação de síntese e degradação

- O fígado é sensível à concentração da glicose no sangue - capta ou libera glicose correspondentemente.
- A glicose liga-se à glicogênio fosfatase a no fígado e a inibe, levando à dissociação e à ativação da proteína fosfatase 1 (PP1) da glicogênio fosforilase a. A PP1 livre desfosforila a glicogênio fosforilase e a glicogênio sintase b, conduzindo à inativação da degradação do glicogênio e à ativação da síntese deste.